

BIOLOGIA CELULAR VETERINARIA

PRACTICA # 6

EXTRACCION DE ADN

El ADN o Acido desoxirribonucleico (o DNA por sus siglas en inglés) es la molécula mas importante a nivel celular. De la información que tiene almacenada en forma de genes dependen todas las actividades que puede realizar una célula y en conjunto, un organismo pluricelular. En células procariotas, el ADN esta compactado y ocupa una buena parte del espacio citoplasmático, mientras que en eucariotas, la molécula se encuentra delimitada por el núcleo.

Aunque es una molécula extremadamente larga, es difícil observar el ADN por microscopia óptica en una célula eucariota normal. Esto solo es posible cuando la célula entra en una fase del ciclo celular llamada mitosis; en tal punto, si es posible observar el ADN que se condensa en forma de cromosomas. Se han desarrollado además, técnicas de laboratorio específicas que permiten visualizar muchas moléculas de ADN juntas, que entre otros pasos requieren esencialmente la ruptura primero del núcleo y después de la membrana plasmática, con la liberación del ADN. Posteriormente, es necesario teñir el ADN con un colorante específico que emite fluorescencia cuando es irradiado con luz UV. Tales técnicas requieren equipo y personal especializado.

OBJETIVO

Mostrar una técnica sencilla de visualizar el ADN de un organismo eucariota.

MATERIALES Y METODO

- 100 ml o ½ taza de chicharos (puede ser cualquier otra verdura, fruta o carne o compuesto animal)
- Sal común
- Agua fría
- Detergente líquido para trastes
- Ablandador de carne o jugo de piña
- Una jeringa de 10 ml y una de 3 ml.
- Alcohol etílico al 90%

* Todo el material, a excepción del alcohol, será llevado por el equipo.

1. Poner en una licuadora los chicharos y el doble de la cantidad de estos de agua fría (200 ml) y una pizca de sal. Licuar por 15 segundos. Tomar en cuenta que si se selecciona otro material se deberá ajustar la cantidad de agua, es decir, si es muy seco, colocar un poco más de agua y viceversa.
2. Colar la mezcla en un recipiente limpio (puede ser una taza medidora). Estos dos pasos se deberá realizar en casa. Llevar la mezcla resultante en un recipiente al laboratorio el día de la práctica.
3. Agregarle detergente con la jeringa (aproximadamente $\frac{1}{6}$ de la cantidad que se tiene de mezcla, 30 ml si la cantidad de mezcla original son 300 ml).
4. Verter la mezcla en tubos de vidrio, llenar $\frac{1}{3}$.
5. Añadir una pizca de ablandador de carne o 0.5 ml de jugo de piña. Agitar suavemente.
6. Ladear el tubo de ensayo y agregar lentamente el alcohol, de manera que forme una capa sobre la mezcla de chicharos. Seguir vertiendo hasta que se tenga la misma cantidad de alcohol que de mezcla.
7. Extraer el DNA (formara un grumo blanco) con un hisopo, como se muestra en la figura 1.



Figura1. Extracción del ADN obtenido de células de chícharo.

PREGUNTAS PARA EL REPORTE:

1. ¿Este procedimiento se puede utilizar con bacterias?
2. ¿Por qué es necesario utilizar detergente?
3. ¿Cuál es el papel que desempeña el ablandador de carne?
4. ¿Por qué en los procedimientos estándar de laboratorio se tiene que teñir el DNA para observarlo?